

磷细菌的增产效果及其有关问题

中国科学院南京土壤研究所磷细菌小组

我们于1972年从植物根系上分离了两株磷细菌——T-39和T-214。在纯培养条件下,它们对磷酸三钙的溶磷能力范围为31.5—48.0毫克/100毫升,菌株经镜检为革兰氏阴性,无芽孢,偏端单鞭毛的假单孢菌属细菌。T-39能够产生黑色素,T-214的菌落灰白色。通过几年的田间试验,两菌株对绿肥作物有一定增产效果,对粮食和油料作物也有效果但不够稳定。现将工作的主要结果介绍如下。

一、磷细菌的增产效果

我们先后在江苏省的响水、东海、铜山、涟水、句容等县的一些公社和农业试验站与贫下中农和技术干部共同布置了二十四组田间小区试验。试验结果列于表1和表2。

从表1和表2结果看出,在十三组绿肥作物的小区对比试验中,磷细菌T-39和T-214表现不同程度的增产。其中六组苕子、五组紫云英、一组怪麻和一组箭舌豌豆试验的增产幅度分别为7.2—32.1%,7.2—50.0%和8.7%。多数为10—20%左右(即鲜草量对照区为1000斤左右,处理区为1100—1200斤左右)。在肥力水平低、缺乏有机质和缺磷的土壤上,磷细菌的增产效果就更明显些。T-39还分别使苕子和紫云英植株的含磷量增加25.0%和12.5%。

表1 绿肥作物接种磷细菌的增产效果

试验地点	土壤	施肥状况	供试作物	处理	鲜草产量 (斤/亩)	增 产		含 磷 量		年 份
						斤/亩	%	P %	增加 %	
响水县康庄公社康庄大队	油泥土	未施磷肥	苕子	对照	1075	—	—			1972—73
				T-39	1288	213.0	19.8			
				T-214	1227	152.0	14.1			
东海县洪庄公社塔桥大队	岭地沙土	钙镁磷肥 40斤/亩	苕子	对照	1430	—	—			1972—73
				T-39	1630	200.0	13.9			
				T-214	1860	430.0	30.1			
同 上	同 上	同 上	苕子	对照	1168	—	—			1974—75
				T-39	1543	375.0	32.1			
				T-214	1251	84.0	7.2			
同 上	同 上	同 上	苕子	对照	3160	—	—	0.16	—	1975—76
				T-39	3612	452	14.3	0.20	25.0	
				T-214	3188	28	0.9	0.16	—	
东海县平明农试站	黑 土	同 上	苕子	对照	4310	—	—			1972—73
				T-39	4960	600.0	15.1			
东海县白塔埠农试站	黑 土	磷矿粉 40斤/亩	苕子	对照	680	—	—			1973—74
				T-39	874	194.0	28.5			
				T-214	814	134.0	19.7			

句容县春城公社润西队	白 土	磷矿粉 60斤/亩	紫云英	对照 T-39	867 1267	— 400.0	— 46.1			1972—73
同 上	同 上	未 施 磷 肥	同 上	对照 T-39 T-214	970 1280 1040	— 310.0 270.0	— 32.0 7.2			1973—74
		磷矿粉 200斤/亩	同 上	对照 T-39 T-214	1440 1734 1650	— 294.0 210.0	— 20.4 14.6			1973—74
同 上	同 上	磷矿粉 75斤/亩	同 上	对照 T-39 T-214	1467 1869 2107	— 402.0 640.0	— 27.0 43.6			1974—75
同 上	同 上	钙镁磷肥 40斤/亩	同 上	对照 T-39 T-214	2530 9324 6327	— 6794 3797	— 268.5 150.0	0.24 0.27 0.23	— 12.5 —	1975—76
			箭 舌 豌豆	对照 T-39 T-214	3079 3863 4018	— 784 939	— 25.5 30.5	0.17 0.16 0.15		1975—76
涟水县农试站	砂碱土	未 施 磷 肥	桤 麻	对照 T-39	3150 3425	— 275.0	— 8.7			1 9 7 2

表 2 粮食和油料作物接种磷细菌的增产效果

试验地点	土 壤	施 肥 状 况	供 试 作 物	处 理	产 量 斤 / 亩	增 减 产		年 份
						斤 / 亩	%	
响 水 县 合 兴 公 社	碱荒地 新改田	硫酸20斤/亩 (追肥)	水 稻	对照 T-39	234.0 266.0	— +32.0	— +13.7	1 9 7 2
涟水县农试站	淤 土	豆饼50斤/亩 加硫酸30斤/ 亩(追肥)	水 稻	对照 T-39	758.0 875.0	— +112.0	— +15.0	1 9 7 2
句容县春城公社润西队	白 土	红花草翻压 (基肥)硫酸20 斤/亩(追肥)	水 稻	对照 T-39 T-214	600.0 666.7 666.7	— +66.7 +66.7	— +11.1 +11.1	1 9 7 4
涟 水 县 柴 市 五 队	砂 土	条施过磷酸 钙40斤/亩 (基肥)	小 麦	对照 T-39 T-214	147.3 178.8 159.6	— +35.0 +12.3	— +23.8 + 8.4	1972—73
涟水县农试站	砂碱土	未 施 磷 肥	山 芋	对照 T-39	1696.0 2216.0	— +520.0	— +30.0	1 9 7 2
铜山县张集公社李村大队	砂碱土	苕子翻压 (基肥)	山 芋	对照 T-39 T-214	3750.0 3696.3 3663.0	— -53.7 -87.0	— - 0.1 - 0.2	1 9 7 4
响 水 县 合 兴 公 社	两合土		花 生	对照 T-39	427.0 492.0	— +65.0	— +12.9	1 9 7 2
铜山县张集公社孟庄大队	砂碱土	条 施 钙 镁 磷 肥 40斤/亩 (基肥)	花 生	对照 T-39 T-214	330.0 344.0 332.0	— +14.0 + 2.0	— + 4.2 —	1 9 7 4
句容县春城公社润西大队	白 土		花 生	对照 T-39 T-214	156.4 173.8 159.9	— +17.4 + 3.5	— +11.1 + 2.1	1 9 7 5
东海县洪庄公社塔桥二队	砂 土		花 生	对照 T-39 T-214	349.0 341.0 347.0	— - 8.0 - 2.0	— - 2.3 - 1.7	1 9 7 5
同 上	同 上		大 豆	对照 T-39 T-214	332.0 316.0 312.0	— -16.0 -20.0	— - 4.9 - 6.0	1 9 7 4

粮食和油料作物的十一组试验,其中三组水稻和一组小麦试验的增产幅度为8.4—23.8%,两组山芋试验虽同为砂碱土,但产量的差异很大:在涟水县农业试验站T-39增产30%,而在铜山县张集公社的砂碱土上,两菌株均无增产效果。四组花生的试验效果也不一致,在响水县合兴公社两合土上,T-39增产12.9%,在句容白土上增产17.4%,但在铜山县张集公社砂碱土和在东海县洪庄公社砂土上均表现平产,大豆试验也平产。

总之,在磷细菌小区对比试验中,以绿肥作物增产较明显,粮食和油料作物虽有增产效果但不够稳定。如在铜山县张集公社砂碱土上进行的大豆、花生和山芋试验均无增产效果。而在涟水县农科所砂碱土上进行的山芋试验却有增产效果。看来,磷细菌的施用效果与土壤之间的关系密切。

二、磷细菌的作用

为了弄清磷细菌T-39和T-214的增产作用,我们对菌株的溶磷能力及其刺激作用进行了以下试验。

1. 溶磷能力

首先,我们测定了T-39和T-214两菌株的溶磷强度。以硫酸铵为氮源,葡萄糖为碳源,分别以磷酸三钙、摩洛哥磷矿粉或昆阳磷矿粉、开阳磷矿粉等为磷源。在500毫升三角瓶中,准确放入磷源1克,硫酸铵0.05克,硫酸镁、氯化钠、氯化钾各0.03克,硫酸锰、硫酸镁各微量,蒸馏水100毫升,pH7.0—7.5。灭菌后接种活化的菌液两种。以不接菌的为对照,在28—30°C下恒温静止培养六天。用钼兰比色法测定培养液中水溶性磷的含量和pH值的变化。除个别情况外,培养液的pH由起始的7.2,通常都下降至5.5以下,同时培养液中水溶性磷的含量也明显增加。增加顺序是:磷酸三钙——摩洛哥磷矿粉——开阳或昆阳磷矿粉(表3)。

表3 菌株的溶磷强度(毫克/100毫升)和培养液的pH值

菌 株	磷 酸 三 钙		摩 洛 哥 磷 矿 粉		开 阳 磷 矿 粉		昆 阳 磷 矿 粉	
	溶 磷 强 度	pH	溶磷强度	pH	溶磷强度	pH	溶磷强度	pH
T-39	36.0	5.5	22.5	4.0	3.5	5.5	3.5	5.5
T-214	46.3	5.0	23.3	4.0	0.4	6.5	0.78	5.5

为了进一步验证菌株的溶磷能力,我们又进行了两组砂培试验。甲组砂培试验以磷酸三钙为磷源;乙组砂培试验以放射性开阳磷矿粉为磷源。均以小麦为供试作物。

(1) 甲组砂培试验,按无菌操作进行。取直径11.5公分、高15公分的磁盆,每盆放石英砂1600克,拌磷酸三钙1.5克,加缺磷营养液400毫升,接种活化的磷细菌菌液10毫升,每盆接菌量3—4万亿。设无磷无菌和有磷无菌两组为对照。在有菌的各处理中分别接种T-39和T-214菌液。每盆播种催芽刚露芽尖而整齐一致的小麦种子5穴,每穴5株,再以200克石英砂覆盖种子。生长44天后,测定小麦幼苗的干重、含磷量及含氮量。在小麦生长初期各处理无差异,但随着小麦的生长,经44天后无磷无菌和有磷无菌两处理的小麦植株出现严重的缺磷现象,而有菌有磷处理的则生长正常,植株的干重、全磷量和全氮量均较前二者为高(表4)。

表 4 甲 组 砂 培 试 验*

处 理	植株干重 克/盆	P ₂ O ₅ 含量(毫克/盆)			全 氮 量 (毫 克/盆)		
		总 量	增 加	%	总 量	增 加	%
无 磷 无 菌	0.8	1.61	—	—	21.51	—	—
有 磷 无 菌	0.92	2.18	—	—	35.55	—	—
T-39	1.51	8.44	6.26	287.1	67.97	32.42	91.19
T-214	2.21	21.06	18.08	829.3	88.94	53.39	150.19

* 培养液起始pH为7.2。

(2) 乙组砂培试验分两个处理: 无菌有磷和有菌有磷处理。用放射性开阳磷矿粉做磷源, 每盆用0.9克, 相当于200微居里, 有菌处理用 T-39菌液接种。为了消除小麦种子内养分的干扰和造成小麦磷素“饥饿”状态, 将移栽11天后的小麦剪去地上部分, 待其重发新叶(二茬小麦), 继续生长33天, 剪去地上部分, 用以测定小麦植株吸收放射性磷的强度。结果表明, 有菌的处理其脉冲数极高, 比无菌处理高896.1%, 小麦植株的鲜重、干重和含磷量也明显提高(表 5)。

表 5 乙 组 砂 培 试 验

处 理	鲜 重		干 重		放 射 强 度		全 磷 含 量	
	克/盆	增加(%)	克/盆	增加(%)	脉 冲	增加(%)	P %	增加(%)
对 照	2.60	—	0.406	—	2518	—	0.148	—
T-39	3.64	40.0	0.518	27.6	25081	896.1	0.219	47.3

注: 乙组砂培试验在我所同位素室的具体指导下, 与山东农学院协作。此后, 山农又用普通开阳磷矿粉重复两批试验, 均获相同结果。

从上述试验结果可以看出, T-39和 T-214两菌株, 确有一定的溶磷能力。

2. 刺激作用。

众所周知, 假单孢菌属的细菌能够产生维生素、生长素之类的物质, 它们对农作物的生长有一定的促进作用。我们的试验也表明了, 在适宜的浓度下, 两菌株的菌液对某些作物的种子发芽、生长以及根系发育等方面均有明显的促进作用。

山芋田间试验表明, 用 T-39和 T-214菌液浸苗, 能够促进山芋发根, 增加腋芽和提早结薯, 尤以 T-214最为明显(表 6)。

表 6 磷细菌对山芋幼苗的影响(栽插后27天)

处 理	浓 度 (菌剂: 水)	须(根)数	总 叶 数 (个)	总 腋 芽 (个)	块 根 数 (个)	四 株 总 重 (克)
对 照	水	79	49	3.5	1	64.0
T-39	1: 10	70	60	4.5	2	81.1
T-214	1: 10	95	55	10.0	4	94.8

苕子离体植株浸苗发根试验的结果表明, T-39 对于苕子离体植株能够促进早发根, 多发根, 其效果超过了 10ppm 磷的作用。而 T-214 虽不促进发根, 但对植株的高度有着

明显的促进作用。

不同浓度的菌液对小麦种子发芽的影响有很大差异。在每皿用菌悬液3毫升情况下, T-214明显地促进种子发芽, 相当于25ppm磷处理的效果。T-39在此浓度下却表现出明显的抑制作用(表7)。然而当T-39的菌悬液稀释成1:20和1:50时, 它的刺激作

表7 T-39和T-214对小麦种子发芽的影响

处 理	发 芽 率 (%)	苗 高 在 5 厘 米 以 上 的 %
自 来 水	60	25
基 质	65	55
25 ppm 磷	90	80
T-39	25	5
T-214	95	80

用也相当于25ppm磷的效果。经乙醇处理后的菌液对油菜种子的发芽有明显的影。T-214浓度在1:10时, 种子的发芽和生长明显地受到抑制, 但浓度在1:50时却对植株的高度有明显的促进作用。T-39浓度在1:20时对籽粒的萌芽有抑制作用。但对以后的发根则显示出明显的促进作用, 比浓度1:50的处理表现更为明显, 其效果也超过25ppm磷的处理(表8)。在上述相同的实验条件下, T-39对油菜发芽的这种“先抑后促”

表8 不同浓度的提取液对油菜种子发芽的影响(每皿30粒)

浓 度	处 理	发 芽 粒 数*1	株 高*2		根 系	
			低于2厘米株数	高于2厘米株数	平均长度(厘米)	特 点
1:10	对 照	2	21	9	3.0	
	T-214	0	30	0	1.9	株矮 根短
1:20	T-39	28	3	27*3	3.9	株高 根长
1:50	对 照	27	16	14	3.3	
	T-214	26	3	27	3.0	
	T-39	30	4	26*4	3.8	
25ppm	磷 (P)	30	12	18	3.4	根冠处卷曲的根较多
蒸 馏 水		30	26	4	3.5	

注: *1 为第五天观察的发芽粒数; *2 为生长第九天观察的株高;

*3 株高均在3—3.5厘米; *4 株高均在2—2.9厘米。

作用, 在小麦发芽试验中具有相类似的趋势。

我们曾将磷细菌 T-214 菌剂用于水稻拌种催芽试验, 落谷后提前出苗两天, 出苗后十天内幼苗的高度和根长明显高于对照, 但这种差异随着植株的长大而逐渐缩小。至于磷细菌 T-39和T-214 的发酵液含有哪些刺激物质有待进一步深入研究。

三、磷细菌在土壤中的存活问题

前面谈到了 T-39和T-214 两株磷细菌在纯培情况下有一定的溶磷和刺激作用, 但将它们制成菌剂施入土壤以后的问题就复杂起来。菌剂的肥效取决于菌株能否在土壤中生存下来。要使它们能够生存, 首先要在菌剂的数量和质量上得到足够的保证。其次是要

使用得当,也就是在农业措施上提供适宜磷细菌的水分、养分、空气、温度以及 pH 等环境条件。此外,菌剂的肥效与土壤类型之间的关系也很密切。因此,有必要了解菌剂进入土壤以后在数量上发生的变化,对于这个问题,我们在室内将 T-39 菌剂接种至不同的土壤和添加各种有机物质的土壤之后再分离回收,取得了以下的结果。

1. 菌株的存活状况随土壤种类的不同差异很大。称取 T-39 菌剂 5 克分别拌入 45 克灭菌的、不灭菌的句容白土 (pH5.5) 和铜山砂碱土 (pH8.5) 内,土壤水分保持在田间最大持水量的 50—60%, 28—30°C 恒温培养, 定期测定 T-39 的数量。土壤在灭菌的情况下经两个半月以后, 每克土壤回收的菌数为最初接种量的九倍。即使在土壤不灭菌的情况下, 接种半月后回收的菌数还保持在最初接种量的二分之一。这说明白土对 T-39 的存活是有利的。但是, 当 T-39 接种至碱性的砂碱土时, 无论是在灭菌或不灭菌的土壤中, 在接种 12 天后回收的菌数, 明显地下降, 特别是在不灭菌的土壤, T-39 急剧死亡, 当接种第 27 天时, 两处理回收的菌数均等于零, 即已全部死亡, 说明 T-39 在砂碱土中的存活状况不良 (表 9)。

表 9 菌剂接种至土壤后回收的数量 (万/克土)

土 类	处 理	开 始	半 月	一 月	二 月	二个半月
白 土	未 灭 菌 土	1.95 亿	1 亿	2460 万	534 万	106 万
	灭 菌 土	2.08 亿	57.2 亿	6700 亿	1140 万	18.2 亿
砂 碱 土	未 灭 菌 土	1.88 亿	0.2 万	0		
	灭 菌 土	1.75 亿	52 万	0		

2. 取铜山砂碱土 50 克分别拌入猪粪稻草粉米糠及麦麸等有机物质 50 克, 加水 100 毫升。灭菌后接种 T-39 菌液 10 毫升。28—30°C 恒温培养, 定期用稀释平板刮刀法测定菌数, 结果表明: 在砂碱土中添加各种有机物质, 对菌株的存活状况有所改善。用猪粪或稻草粉拌土, 接种磷细菌后, 在培养前期回收的菌数急剧下降, 但在培养近一个月时, 其菌数还分别保持 220 亿和 140 亿。用米糠或麦麸拌土接种三天后菌数增高一倍多, 6 天开始大量繁殖, 至第 27 天, 一直保持着大量的菌数 (表 10)

表 10 菌剂接种至添加各种有机物质的砂碱土中回收的数量 (个/克)

处 理	培 养 天 数				
	0	3	6	12	27
猪 粪	68 万亿	3 万亿	2.8 万亿	—	222 亿
稻 草	68 万亿	3700 亿	220 亿	320 亿	140 亿
米 糠	68 万亿	144 万亿	2640 万亿	474000 万亿	148000 万亿
麦 麸	68 万亿	144 万亿	79200 万亿	24300 万亿	104600 万亿

3. 根据盆栽和室内试验, 磷细菌 T-39 以菌剂形式进入土壤以后, 用磷酸三钙平板分离回收的 T-39, 其菌落形态保持着原有的能产生黑色素的特征, 甚至产生的色素颜色更深, 溶解圈更为清晰, 这说明了菌株的溶磷能力没有减弱。特别是将菌剂拌入不灭菌的土壤以后回收的菌落其溶磷特征更为明显 (表 11)。

表 11

菌 剂 接 种 至 土 壤 后 回 收 的 菌 落 特 征

处 理	菌 落 半 径 (厘米)	透 明 圈 半 径 (厘米)	备 注
菌 剂	0.3	0.2	
灭 菌 土	0.2	0.3	无 作 物
不 灭 菌 土	0.35	0.7	无 作 物
根 际 土	0.3	0.4—0.6	盆 栽 苕 子

我们还在铜山县张集公社砂碱土上布置的大豆、花生和山芋接种的磷细菌试验中,在苗期对 T-39 菌株进行了回收。大豆和花生以拌种方式接种,每穴大豆的接种量为 463 万,每粒花生的接种量为 200 万,接种后 20 天,在植株根系及其附着的土壤以及残存的种皮表面上的菌数分别降至 2.3 万和 1.7 万;山芋移栽时以蘸秧根方式每穴接种量 2556.3 万,接种 10 天后仅剩 12 万。然而,在白土上进行的紫云英试验,接种一月后采样分离,还出现有 T-39 菌落。从而进一步证明土壤种类对菌株的存活状况存在着很大差异。

在这里应该说明的是,由于土壤中固有的细菌为数繁多,本试验未采用特殊的方法进行磷细菌的回收,因此回收误差在所难免。

解决磷细菌在某些土壤中的存活,是一个复杂而又重要的问题。有些菌株在纯培养条件下表现出优良的性状,但是一旦以菌剂形式进入土壤这个微生物的大本营以后,情况就复杂起来。因此,如何使接种的磷细菌适应于外界环境,如何在农业措施上提供生存条件,是一个需要解决的问题,也是某些细菌肥料工作共同存在的问题。

*

*

*

以上介绍了有关 T-39 和 T-214 两株假单胞菌属的溶磷细菌几年来在江苏省部分土壤上对绿肥等作物的接种效果及有关问题。室内试验证明,这两个菌株可由葡萄糖等碳源产酸使难溶性磷转化为水溶性磷,提供作物的磷素营养,其生命活动的代谢产物对种子发芽、幼苗生长和根系发育等有一定的刺激作用。同时对 T-39 菌株在土壤中存活问题作了初步探讨,指出了土壤类型、有机物质对 T-39 存活有密切关系。关于磷细菌施用的有效条件及作用机制有待进一步研究。

延安地区杏子河流域土壤含磷 情况及磷肥增产效果

西北水土保持生物土壤研究所磷肥组

随着农业学大寨、普及大寨县运动的深入发展,开展土壤肥力和合理经济的施用化肥的研究,对改善土壤营养状况和促进农业生产具有十分重要的意义。

我们在总结群众经验的基础上,1973年开始对延安地区杏子河流域有代表性的社、队的土壤重点进行了调查,并研究了小麦、玉米等作物对磷肥的效应。现将分析和试验结果整理如下,以供参考。